

# Perbandingan Teknik Inokulasi *Puccinia horiana* dan Seleksi Bakteri Antagonis untuk Mengendalikan Penyakit Karat Putih pada Krisan

Hanudin, W. Nuryani, E. Silvia Yusuf, I Djatnika, dan M. Soedarjo

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang-Pacet, Cianjur 43253

Naskah diterima tanggal 16 September 2010 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 27 Juni 2011

**ABSTRAK.** Penyakit karat pada krisan (*Dendranthema grandiflora*) yang disebabkan oleh *Puccinia horiana*, merupakan kendala utama dalam budidaya krisan. Kehilangan hasil krisan oleh patogen tersebut dapat mencapai 100%. Penelitian ini bertujuan (1) mendapatkan teknik inokulasi *P. horiana* yang efektif menimbulkan gejala penyakit dan (2) mendapatkan bakteri antagonis yang secara efektif dapat mengendalikan penyakit karat putih pada tanaman krisan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias (1.100 m dpl.) sejak Juni sampai dengan Desember 2009. Penelitian terdiri dari dua kegiatan. Rancangan yang digunakan pada masing-masing kegiatan ialah acak kelompok dengan 11 perlakuan yaitu pustul karat direndam dalam air, pustul karat pecah direndam dalam air, pustul karat direndam dalam air disimpan 10°C 12 jam, pustul karat pecah direndam dalam air 10°C 12 jam, pustul ditempel di atas daun, pustul pecah ditempel di atas daun, pustul ditempel di bawah daun, pustul pecah ditempel di bawah daun, tanaman plus pustul disimpan di samping tanaman uji disungkup, tanaman pustul pecah disimpan di samping tanaman uji disungkup, dan kontrol dengan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode inokulasi *P. horiana* isolat yang paling efektif menimbulkan gejala penyakit karat putih pada krisan ialah perlakuan peletakan tanaman yang terinfeksi *P. horiana* dengan pustul yang belum maupun telah pecah di samping tanaman sehat. Dari hasil uji antagonistik diketahui bahwa isolat bakteri antagonis *Corynebacterium*-2, merupakan isolat yang paling efektif mengendalikan *P. horiana*. Kemangkusan bakteri antagonis tersebut dalam menekan *P. horiana* sebanding dengan fungisida sintetik berbahan aktif azoksistrobin 0,1%. Isolat *Corynebacterium*-2 berpotensi untuk digunakan lebih lanjut sebagai bahan aktif biopestisida yang efektif untuk mengendalikan penyakit karat putih pada krisan. Pengembangan biopestisida tersebut diharapkan dapat menekan penggunaan pestisida sintetik.

Katakunci: *Dendranthema grandiflora*; *Corynebacterium* sp.; *Puccinia horiana*; Penyakit karat putih; Biopestisida

**ABSTRACT.** Hanudin, W. Nuryani, E. Silvia Yusuf, I Djatnika, and M. Soedarjo. 2011. Comparison of Inoculation Techniques and Selection of Antagonist Bacteria to Control White Rust Disease on Chrysanthemum. White rust disease caused by *P. horiana* is one of the serious problems on chrysanthemum cultivation. The pathogen causes yield losses up to 100%. The research was aimed (1) to determine the effective inoculation technique and (2) to select antagonistic bacteria for effectively controlling the pathogen. The research was carried out in the Laboratory and Glasshouse of Indonesian Ornamental Crops Research Institute (IOCRI), from June to December 2009. The research consisted of two experiments. Each experiment was arranged in a randomized completely block design with 11 treatments i.e. rust pustuls dipped in water, mature rust pustuls dipped in water, rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours, mature rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours, pustuls adhered on the leaf, mature pustuls adhered on the leaf, pustuls adhered beneath the leaf, mature rust pustuls adhered beneath the leaf, the plant + pustuls stored beside tested plants covered by transparent plastic, mature pustuls plants stored beside tested plants covered by transparent plastic, and control with three replications. The results indicated that the most effective inoculation technique for the pathogen was locating and infected plant with immature or mature pustuls surrounding a healthy plant. The effective antagonistic bacteria against the pathogen was *Corynebacterium*-2. The effectiveness of the antagonistic bacteria in suppressing *P. horiana* was equivalent to synthetic fungicide azoxystrobin 0.1%. The *Corynebacterium*-2 isolate will be potentially used as an active ingredient of biopesticide for controlling white rust disease on chrysanthemum. The development of the biopesticide is expected to decrease to utilization of synthetic pesticides.

Keywords: *Dendranthema grandiflora*; *Corynebacterium* sp.; *Puccinia horiana*; White rust diseases; Biopesticide

Penyakit karat putih pada krisan (PKPKr) yang disebabkan oleh *Puccinia horiana* P.Henn, merupakan kendala utama dalam budidaya krisan. Kehilangan hasil diperkirakan mencapai 30% yang terjadi karena penurunan nilai jual dan penundaan waktu panen (Suhardi 2009). Di New

England, kehilangan hasil yang disebabkan oleh PKPKr dapat mencapai 100% (Ellis 2007).

Patogen ini pertama kali dilaporkan di Asia Timur dan diidentifikasi pada tahun 1905 oleh P. Henning (Henning 1991 dalam Bonde *et al.* 1995). Sejak tahun 1963 dilaporkan bahwa

PKPKr telah menginfeksi pertanaman krisan di beberapa negara, seperti England (Baker 1967), New Zealand, dan Afrika Selatan (Firman dan Martin 1968), Australia (Exley *et al.* 1993). Penyakit karat putih pada krisan diduga masuk ke Indonesia melalui benih krisan impor dengan gejala yang belum muncul (Djatnika *et al.* 1994). Gejala penyakit yang belum muncul seringkali menyulitkan proses identifikasi dan determinasi penyakit. Dari banyak cara penularan penyakit karat yang terjadi di lapangan, penularan penyakit yang paling sering ditemukan antarsentra produksi bahkan antarnegara, yaitu melalui benih.

Gejala serangan *P. horiana* pada daun krisan, mula-mula berupa bercak berwarna kuning di permukaan atas daun kemudian berubah menjadi coklat tua di bagian tengahnya. Di permukaan bawah daun terbentuk pustul yang pada awalnya berwarna merah muda, selanjutnya pustul membesar, berwarna putih, dan akhirnya daun mengalami nekrosis. Pustul karat merupakan kumpulan uredospora dan teliospora yang dapat berkecambah membentuk hifa yang kemudian menginfeksi daun (Suhardi 2009).

*Puccinia horiana* bersifat parasit obligat, artinya hanya menginfeksi dan tumbuh pada jaringan tanaman hidup. Sampai saat ini skrining resistensi varietas krisan dan pengendalian *P. horiana* pada umumnya menggunakan metode inokulasi secara alami. Metode inokulasi tersebut dilakukan dengan cara meletakkan tanaman krisan yang terinfeksi *P. horiana* sebagai sumber inokulum di sekeliling dan di antara plot perlakuan tanaman uji. Cara tersebut sangat efektif menimbulkan gejala penyakit karat putih dan berhasil digunakan sebelumnya oleh Hanudin *et al.* (2004) serta Rahardjo dan Suhardi (2008) untuk tujuan skrining resistensi PKPKr. Sejauh ini informasi mengenai kondisi pustul yang optimal digunakan sebagai sumber inokulum belum tersedia.

Penggunaan bakteri antagonis untuk mengendalikan beberapa patogen tanaman telah banyak dilakukan di beberapa sentra produksi. Hal tersebut didasarkan pada pertimbangan bahwa cara pengendalian menggunakan pestisida kimiawi sintetis berdampak negatif terhadap pencemaran lingkungan. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* digunakan sebagai bahan

aktif biopestisida ramah lingkungan yang diproduksi oleh Balai Penelitian Tanaman Hias. Biopestisida ini diberi nama dagang Prima BAPF. Berdasarkan hasil uji lapangan yang dilakukan pada tahun 2006 di Desa Cihanjuang Rahayu-Parongpong, Kabupaten Bandung Barat, diketahui bahwa biopestisida tersebut dapat menekan perkembangan PKPKr sebesar 15,72% (Hanudin *et al.* 2008).

*Corynebacterium* sp. merupakan bakteri antagonis yang pernah ditemukan hidup pada daun padi di daerah Jatisari Karawang. Bakteri ini berhasil diisolasi dan terbukti efektif mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh cendawan dan bakteri pada tanaman pangan dan hortikultura, seperti penyakit kresak pada padi dan penyakit layu serta bercak daun pada cabai serta kubis-kubisan. *Corynebacterium* sp. diformulasikan oleh Balai Besar Peramalan Organisme Pengganggu Tumbuhan (BB POPT) dan Kelompok Tani Patih di Subang dalam bentuk cair dan diberi nama dagang ANTIKRES (BBPOPT 2007).

Penelitian bertujuan mendapatkan teknik inokulasi *P. horiana* yang efektif menularkan penyakit karat putih, serta memperoleh minimal satu spesies bakteri antagonis dari spesies *B. subtilis*, *P. fluorescens*, dan *Corynebacterium* yang efektif mengendalikan penyakit tersebut pada krisan. Pada penelitian ini beberapa metode inokulasi diuji menggunakan materi tanaman terinfeksi *P. horiana* berpustul pecah maupun belum pecah untuk menguji efektivitas beberapa bakteri antagonis yang dapat mengendalikan penyakit karat pada krisan. Isolat bakteri tersebut digunakan sebagai bahan aktif biopestisida untuk meningkatkan efektivitas biopestisida Prima BAPF.

Hipotesis yang diajukan ialah bahwa metode inokulasi dengan cara meletakkan tanaman krisan yang terinfeksi sebagai sumber inokulum di sekeliling dan di antara plot perlakuan tanaman uji diduga sebagai metode inokulasi *P. horiana* yang efektif. Salah satu isolat bakteri antagonis yang ditemukan dari lapangan diduga dapat mengendalikan PKPKr.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias 1.100 m dpl., Segunung-Pacet, Cianjur pada periode

bulan Juni sampai Desember 2009. Bahan-bahan penelitian yang digunakan di antaranya ialah bibit krisan, polibag, pupuk kandang, pupuk NPK, inokulum *P. horiana* dan isolat bakteri antagonis. Kegiatan penelitian ini meliputi:

#### Persiapan Tanaman Uji dan Teknik Budidaya

Stek pucuk krisan varietas Fiji Kuning tipe standar yang berakar dan berumur kurang lebih 2 minggu setelah *pinching* diperoleh dari bagian unit produksi benih sumber (UPBS) Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi). Setiap stek ditanam dalam satu polibag berukuran 25 x 20 cm yang berisi campuran pupuk kandang matang dan tanah (1 : 1 v/v), kemudian ditempatkan di dalam rumah kaca dengan jarak antarperlakuan 20 cm. Populasi tanaman yang digunakan pada percobaan ialah 10 tanaman/ulangan, sehingga total individu yang diperlukan ialah 330 tanaman. Pupuk buatan

diberikan tiap 3 minggu sebanyak dua kali, yaitu pada umur 2 dan 8 minggu setelah tanam (MST). Pupuk buatan yang digunakan ialah NPK (15:15:15) sebanyak 5 g atau 0,5 sendok makan/tanaman. Tanaman dipelihara pada kondisi hari panjang selama 35 hari setelah tanam (HST) dengan penambahan pencahayaan dilakukan antara pukul 22:00-02:00. Cahaya tambahan berasal dari lampu pijar 75 watt yang dipasang 175 cm di atas permukaan tanah dengan jarak 200 cm antarlampu (Sanjaya 1994). Pengendalian hama dilakukan dengan penyemprotan abamektin 18 EC (0,2 ml/l), terutama untuk pengendalian kutudaun (*Rhopalosiphum sanbornii*), pengorok daun (*Liriomyza* sp.), dan trips.

#### Perbandingan Metode Inokulasi

Sumber inokulum *P. horiana* diambil dari daun dan tanaman krisan yang terinfeksi *P. horiana*

**Tabel 1. Metode inokulasi *P. horiana* secara buatan pada tanaman uji di rumah kaca (*Artificial inoculation methods of *P. horiana* on test plants in a glasshouse*)**

Kode perlakuan ( <i>Treat-ments code</i> )	Metode inokulasi <i>P. horiana</i> secara buatan ( <i>Artificial inoculation methods of <i>P. horiana</i></i> )	Keterangan ( <i>Remarks</i> )
1	Pustul karat direndam dalam air ( <i>Rust pustuls dipped in water</i> )	lima helai daun berpustul karat yang belum atau telah pecah dikerok, kemudian hasil kerokan direndam dalam 100 ml air ledeng selama 12 jam.
2	Pustul karat pecah direndam dalam air ( <i>Mature rust pustuls dipped in water</i> )	
3	Pustul karat direndam dalam air disimpan 10°C 12 jam ( <i>Rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours</i> )	
4	Pustul karat pecah direndam dalam air disimpan 10°C 12 jam ( <i>Mature rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours</i> )	
5	Pustul ditempel di atas daun ( <i>Pustuls adhered on the leaf</i> )	satu helai daun krisan berpustul yang belum atau telah pecah ditempelkan di atas daun tanaman krisan sehat, dengan posisi bagian bawah daun terinfeksi ditempelkan pada bagian atas daun sehat, kedua ujung tangkai daun diikat menggunakan tali rafia.
6	Pustul pecah ditempel di atas daun ( <i>Mature pustuls adhered on the leaf</i> )	
7	Pustul ditempel di bawah daun ( <i>Pustuls adhered beneath the leaf</i> )	satu helai daun krisan berpustul yang belum atau telah pecah ditempelkan pada bagian bawah daun tanaman krisan sehat, dengan posisi bagian bawah daun terinfeksi ditempelkan pada bagian bawah daun sehat, kedua ujung tangkai daun diikat menggunakan tali rafia.
8	Pustul pecah ditempel di bawah daun ( <i>Mature rust pustuls adhered beneath the leaf</i> )	
9	Tanaman plus pustul disimpan di samping tanaman uji disungkup ( <i>The plant + pustuls stored beside tested plants covered by transparent plastic</i> )	satu pohon tanaman krisan yang terinfeksi penyakit karat dengan posisi pustul belum atau telah pecah diletakkan di tengah-tengah tanaman sehat, kemudian disungkup plastik transparan selama 10 hari.
10	Tanaman pustul pecah disimpan di samping tanaman uji disungkup ( <i>Mature pustuls plants stored beside tested plants covered by transparent plastic</i> )	
11	Kontrol ( <i>Control</i> )	Tanaman sehat diletakkan pada plot percobaan tanpa perlakuan apapun.

yang diperoleh dari pesemaian Kebun Percobaan Balithi Cipanas. Materi daun tersebut dibawa ke laboratorium, kemudian diseleksi. Seleksi dilakukan terhadap daun yang berpustul karat belum ataupun setelah pecah, selanjutnya pustul karat dikerok menggunakan sendok makan. Setiap 1 g pustul karat diperoleh dari lima helai daun krisan, dituangkan ke dalam erlenmeyer kapasitas 250 ml yang berisi 100 ml air steril. Suspensi pustul karat di dalam erlenmeyer disimpan pada suhu kamar ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) atau lemari es suhu  $10^\circ\text{C}$  selama 12 jam, dan suspensi inokulum siap untuk diinokulasikan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok 11 perlakuan teknik inokulasi *P. horiana* dengan tiga ulangan. Perlakuan tersebut disajikan pada Tabel 1.

#### Skrining Bakteri Antagonis terhadap *P. horiana*

Isolat *B. subtilis*, *P. fluorescens*, dan *Corynebacterium* diperoleh dari hasil koleksi Laboratorium Bakteriologi Balithi. Pada setiap spesies bakteri antagonis, masing-masing dipilih tiga isolat, sehingga terkumpul sembilan isolat bakteri untuk diuji daya antagonistiknya terhadap *P. horiana* pada tanaman krisan secara *bioassay*. Masing-masing isolat tersebut dibuat suspensi dengan kerapatan  $10^9$  cfu/ml, kemudian disemprotkan pada tanaman krisan yang telah diinokulasi *P. horiana*. Metode inokulasi terdiri atas penempatan lima pot tanaman terinfeksi *P. horiana* dengan kondisi pustul belum pecah di sekitar tanaman uji, kemudian disungkup dengan plastik transparan.

Percobaan ini menggunakan krisan cv. Sakuntala tipe standar yang rentan terhadap *P. horiana*. Populasi tanaman uji yang digunakan pada percobaan tersebut ialah 10 tanaman per ulangan, sehingga total sebanyak 330 tanaman. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dengan 11 perlakuan dan tiga ulangan.

Perlakuan terdiri atas sembilan isolat bakteri antagonis ditambah satu fungisida sintetik (azoksistrobin konsentrasi 0,1% sebagai pembanding) dan kontrol, sehingga total menjadi 11 perlakuan (Tabel 2).

Peubah yang diamati terdiri atas waktu inkubasi (WI) yang diamati setiap hari sampai semua perlakuan terinfeksi *P. horiana*. Indeks penyakit karat putih, mulai diamati pada 7-64 hari setelah inokulasi (HSI). Pengamatan indeks penyakit karat putih dilakukan pada 10 tanaman, tiap tanaman dinilai berdasarkan metode Suhardi (2009) dengan kriteria sebagai berikut:

- 0 = Tidak ada serangan,
- 1 = Terdapat 1-3 pustul, serangan terbatas di daun-daun bawah,
- 2 = Terdapat >5 pustul/daun, serangan terbatas di daun-daun bawah atau serangan merata di seluruh daun namun tiap daun hanya terdapat 1-3 pustul,
- 3 = Serangan mencapai daun-daun tengah, umumnya >5 pustul/daun,
- 4 = Serangan mencapai daun-daun atas, umumnya >5 pustul/daun,

**Tabel 2. Uji antagonistik terhadap *P. horiana* secara in vivo (*The in vivo antagonistics test of P. horiana*)**

Perlakuan ( <i>Treatments</i> )		Keterangan ( <i>Remarks</i> )
Kode ( <i>Code</i> )	Nama isolat ( <i>Name of isolate</i> )	
1	Ba Cs1a	<i>B. subtilis</i> berasal dari rizosfer caisin dari Segunung
2	Ba 3	<i>B. subtilis</i> filosfer krisan Bandungan
3	Ba Cs 3	<i>B. subtilis</i> berasal dari rizosfer caisin dari Segunung
4	Cb-1	<i>Corynebacterium</i> berasal dari Biopestisida Antikres dari produk BBPOPT
5	Cb-2	<i>Corynebacterium</i> isolat dari Jatisari Karawang
6	Cb-3	<i>Corynebacterium</i> isolat filosfer krisan Sukabumi
7	Pf 1 Krisan	<i>P. fluorescens</i> berasal dari filosfer krisan Bandungan
8	Pf 2	<i>P. fluorescens</i> berasal dari filosfer krisan Pakem Yogyakarta
9	Pf 3	<i>P. fluorescens</i> berasal dari filosfer krisan Sukabumi
10	Azoksistrobin	(Fungisida sintetik) sebagai pembanding, diaplikasikan dengan konsentrasi 0,1%
11	Kontrol	Air ledeng

Ba Cs = *B. subtilis* isolat caisin, Cb = *Corynebacterium*, Pf = *P. fluorescens*

5 = Serangan terdapat hampir pada seluruh daun, sebagian daun telah mengering.

Intensitas serangan tiap petak dihitung dengan rumus:

$$IS = \frac{\sum (v \times n)}{N \times z} \times 100\%$$

di mana:

IS = Intensitas serangan karat (100%),

v = Indeks penyakit tiap kategori serangan,

n = Jumlah tanaman tiap kategori serangan,

Z = Indeks penyakit dari kategori serangan tertinggi,

N = Jumlah tanaman yang diamati (10 tanaman/ perlakuan).

Pengolahan data dilakukan menggunakan program IRISTAT pada tingkat kepercayaan 95%. Uji beda antarperlakuan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

#### Luas Areal di Bawah Kurva Perkembangan Penyakit (AUDPC) dan Persentase Peningkatan Infeksi Bakteri Antagonis Dibanding Kontrol

Luas areal di bawah kurva perkembangan penyakit (AUDPC), menunjukkan tingkat efektivitas perlakuan untuk menimbulkan gejala penyakit. Semakin tinggi angka AUDPC, maka semakin efektif perlakuan tersebut menimbulkan gejala penyakit dan sebaliknya. AUDPC dihitung menggunakan metode integrasi trapezoidal (Jeger dan Viljanen-Rollinson 2001), dengan rumus sebagai berikut:

$$AUDPC = \sum_i^{n-1} \left| \frac{(Y_{i+1} + Y_i)}{2} \right| t_{i+1} - t_i$$

di mana:

$Y_{i+1}$  = Data pengamatan ke-i + 1,

$Y_i$  = Data pengamatan ke-i,

$t_{i+1}$  = Waktu pengamatan ke-i + 1,

$t_i$  = Waktu pengamatan ke-i,

n = Jumlah total pengamatan.

AUDPC pada perlakuan pengaruh bakteri antagonis terhadap intensitas serangan *P. horiana*, merupakan kebalikan dari AUDPC pengaruh perlakuan metode inokulasi. Semakin rendah angka AUDPC, maka semakin efektif bakteri antagonis tersebut menekan patogen.

Persentase peningkatan dan atau penekanan dibanding kontrol dihitung sebagai indikator

keberhasilan metode inokulasi dan atau antagonistik bakteri. Perhitungan persentase peningkatan gejala serangan *P. horiana* dihitung berdasarkan rumus:

$$PP = (T - K / K) \times 100\%$$

sedang persentase penekanan serangan *P. horiana* oleh bakteri antagonis dihitung berdasarkan rumus:

$$PPn = (K - T / K) \times 100\%.$$

di mana:

PP = Persentase peningkatan,

PPn = Persentase penekanan,

K = Kontrol,

T = Perlakuan metode inokulasi/bakteri antagonis.

Data yang dikumpulkan selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan program IRISTAT pada tingkat kepercayaan 95%. Beda nyata antarperlakuan dihitung berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perbandingan Metode Inokulasi Penyakit Karat Waktu Inkubasi dan Indeks Penyakit Karat

Perlakuan metode inokulasi *P. horiana* menggunakan penyemprotan pustul dan penempelan daun terinfeksi di atas daun tanaman uji, menunjukkan WI yang lebih cepat (masing-masing 7 dan 9 hari), bila dibandingkan dengan metode inokulasi menggunakan tanaman terinfeksi yang diletakkan di samping tanaman uji. Metode inokulasi *P. horiana* menggunakan penyemprotan pustul pada tanaman krisan dapat menghasilkan pustul sebanyak rerata 18,7/ daun dengan diameter antara 0,71-1,79 mm (Contreras dan Garcia 2008). Masa inkubasi perlakuan sekitar 10 HSI (Zandvoort et al. 1968). Ohishi et al. (2000) melaporkan bahwa metode inokulasi menempelkan daun terinfeksi di atas daun tanaman uji dapat mempertahankan patogenisitas *P. horiana* paling lambat selama 14 bulan. Menurut Suhardi (2009) tanaman krisan rentan yang diinokulasi menggunakan tanaman terinfeksi yang diletakkan di samping tanaman uji, waktu inkubasi *P. horiana* pada umumnya terlihat 5-14 HSI, sedangkan Rahardjo dan Suhardi (2008) melaporkan bahwa waktu inkubasi *P. horiana* pada tanaman krisan rentan



**Tabel 3. Waktu inkubasi dan perkembangan intensitas serangan *P. horiana* pada krisan menggunakan beberapa metode inokulasi di rumah kaca pada 36-64 HSI (*Incubation periods and development of *P. horiana* diseases intensity using some inoculations methods in the glasshouse at 36-64 DAI*)**

Teknik inokulasi ( <i>Inoculation techniques</i> )	Waktu inkubasi ( <i>Incubation periods</i> ) Hari (Days)	Rerata intensitas serangan <i>P. horiana</i> pada pengamatan ke ... HSI ( <i>Average of diseases intensity observed at ... DAI</i> ) %				
		36	43	50	57	64
Pustul karat direndam dalam air ( <i>Rust pustuls dipped in water</i> )	7	8,33 b*	8,33 b	8,33 b	10,00 b	10,00 b
Pustul karat pecah direndam dalam air ( <i>Mature rust pustuls dipped in water</i> )	7	8,33 b	8,33 b	8,33 b	11,67 b	13,33 b
Pustul karat direndam dalam air disimpan 10°C 12 jam ( <i>Rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours</i> )	7	13,33 a	13,33 a	13,33 a	16,67 a	18,33 a
Pustul karat pecah direndam dalam air disimpan 10°C 12 jam ( <i>Mature rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours</i> )	7	8,33 b	8,33 b	8,33 b	18,33 a	20,00 a
Pustul ditempel di atas daun ( <i>Pustuls adhered on the leaf</i> )	7	15,00 a	15,00 a	15,00 a	21,67 a	23,33 a
Pustul pecah ditempel di atas daun ( <i>Mature pustuls adhered on the leaf</i> )	7	8,33 b	8,33 b	8,33 b	13,33 a	13,33 b
Pustul ditempel di bawah daun ( <i>Pustuls adhered beneath the leaf</i> )	7	5,00 b	5,00 b	5,00 b	13,33 a	13,33 b
Pustul pecah ditempel di bawah daun ( <i>Mature rust pustuls adhered beneath the leaf</i> )	9	15,00 a	16,67 a	16,67 a	16,67 a	16,67 a
Tanaman plus pustul disimpan di samping tanaman uji disungkup ( <i>The plant + pustuls stored beside tested plants covered by transparent plastic</i> )	9	20,00 a	20,00 a	20,00 a	21,67 a	21,67 a
Tanaman pustul pecah disimpan di samping tanaman uji disungkup ( <i>Mature pustuls plants stored beside tested plants covered by transparent plastic</i> )	9	16,67 a	18,33 a	18,33 a	21,67 a	21,67 a
Kontrol ( <i>Control</i> )	7	6,67 b	6,67 b	6,67 b	15,00 a	15,00 a
KK(CV), %		15,79	15,89	13,57	17,79	17,27

HSI (DAI) = Hari setelah inokulasi (*Days after inoculations*)

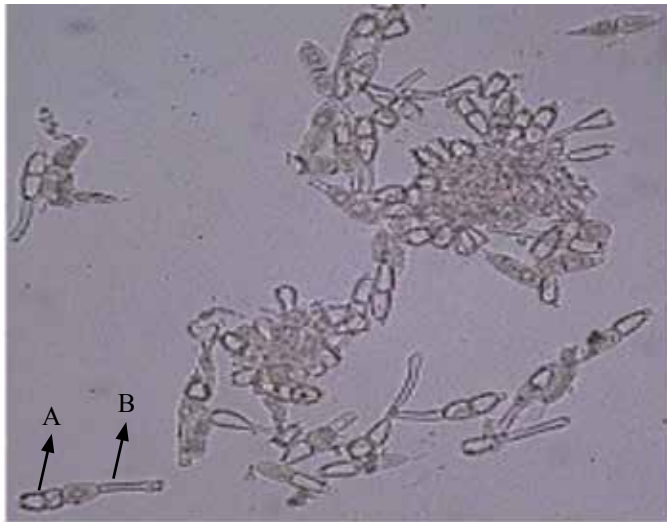
\* Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Duncan (*The mean followed by the same letters in the same column are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test at the 5% level*)

(klon nomor 125.14, 116.53, 116.44, dan 133.59) yang diinokulasi secara alami, masing-masing yaitu 77,77, 77,59, 79,33, dan 81,67 HST.

Dalam kondisi rumah kaca yang tidak ada aliran angin sebagai media penularan spora, kecepatan penetrasi spora *P. horiana* diduga disebabkan oleh jarak yang cukup jauh antara sumber inokulum dan inang baru. Semakin jauh jarak antara sumber inokulum dan inang baru, penetrasi spora semakin lambat dan sebaliknya. Sejalan dengan hal tersebut Griesbach *et al.*

(1991) melaporkan bahwa penetrasi spora dipengaruhi oleh kerapatan, jumlah, dan jarak sumber inokulum dengan inang baru, serta waktu pembukaan dan populasi stomata pada permukaan daun. Pada percobaan ini gejala serangan karat putih pada beberapa perlakuan metode inokulasi tidak berkembang dengan baik. Intensitas serangan (IS) *P. horiana* berkisar antara 5-21,67% (Tabel 3).

Kondisi di rumah kaca dan cara penempatan wadah (polibag) diduga tidak menciptakan kondisi



**Gambar 1.** (A) hialin teliospora dari *P. horiana* (*P. horiana hyaline teliosphore*), (B) tangkai teliospora (*P. horiana teliosphore stalk*), sumber (source): Szakuta dan Butrymowicz (2004)

lingkungan yang kondusif bagi perkembangan PKPKr. Agrios (1988) melaporkan bahwa gejala penyakit timbul apabila terjadi interaksi antartiga faktor, yaitu patogen yang bervirulensi tinggi, inang yang rentan, dan faktor lingkungan yang kondusif. Apabila salah satu faktor saja tidak dipenuhi, maka gejala penyakit tidak timbul dan ketiga faktor tersebut dikenal dengan sebutan segitiga penyakit.

Penyakit karat tidak berkembang di rumah plastik atau rumah kaca karena kelembaban relatif yang rendah ( $<70\%$ ), suhu yang tinggi ( $>28^{\circ}\text{C}$ ), dan permukaan daun yang kering (Anonim 2007). Uredospora mampu bertahan hidup hanya selama 5 menit, apabila kelembaban relatif  $< 80\%$ . Dengan jarak antarpolibag yang cukup jauh yaitu 20 cm, kelembaban mikro di antara tanaman yang sangat diperlukan untuk perkembangan penyakit tidak terpenuhi. Lingkungan mikro diperlukan untuk perkecambahan teliospora atau pembentukan dan perkecambahan basidiospora, serta proses infeksi. Teliospora dan basidiospora merupakan dua jenis spora yang dihasilkan *P. horiana* dalam siklus hidupnya (Suhardi 2009).

Menurut MacDonald (2001) perkecambahan teliospora membutuhkan suhu pada kisaran  $4\text{--}23^{\circ}\text{C}$  (optimum  $17^{\circ}\text{C}$ ) dan RH  $>90\%$ , sedangkan perkecambahan basidiospora berlangsung pada kisaran suhu  $17\text{--}24^{\circ}\text{C}$  (optimum  $17^{\circ}\text{C}$ ) dan RH  $>90\%$ . Proses infeksi membutuhkan waktu 2 jam dan dalam

waktu 24 jam  $\pm 50\%$  uredospora sudah menginfeksi tanaman. Gejala penyakit karat muncul setelah 7-10 hari pada suhu  $>24^{\circ}\text{C}$ , sedangkan pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  yaitu 8 hari. Selanjutnya Szakuta dan Butrymowicz (2004) melaporkan bahwa teliospora berukuran  $14,5 \times 41,5 \mu\text{m}$ , hialin kuning terang, dan terdiri atas dua sel ramping pada sekatnya. Teliospora terdapat pada berbagai stadia pertumbuhan tanaman (Gambar 1).

Pada pengamatan 36-50 HSI terlihat bahwa perlakuan menggunakan tanaman berpustul karat yang diletakkan di sekitar tanaman uji kemudian disungkup, menunjukkan intensitas serangan yang paling tinggi (20%). Intensitas serangan *P. horiana* tertinggi kedua dan ketiga, berturut-turut ditunjukkan oleh perlakuan menggunakan tanaman berpustul karat pecah yang diletakkan di sekitar tanaman uji kemudian disungkup, dan perlakuan daun berpustul yang ditempelkan di atas daun tanaman uji. Intensitas serangan perlakuan tersebut masing-masing 18,33 dan 15%.

Pada pengamatan 57-64 HSI perlakuan daun berpustul belum pecah yang ditempelkan di atas daun tanaman uji menunjukkan intensitas serangan yang tertinggi (23,33%). Intensitas serangan perlakuan tersebut secara statistik tidak berbeda nyata dengan IS perlakuan menggunakan tanaman berpustul karat, baik yang telah pecah maupun belum, yang diletakkan di sekitar tanaman uji kemudian disungkup. Kedua perlakuan tersebut menunjukkan IS yang sama, yaitu sebesar 21,67%. Kondisi pustul

**Tabel 4. AUDPC dan persentase peningkatan dibanding kontrol (AUDPC and the increase of percentage compared to control)**

Teknik inokulasi (Inoculation techniques)	AUDPC	Persentase peningkatan dibanding kontrol (Percentage of the increase compared to control)
Pustul karat direndam dalam air (Rust pustuls dipped in water)	250,36 b*	-
Pustul karat pecah direndam dalam air (Mature rust pustuls dipped in water)	273,70 b	-
Pustul karat direndam dalam air disimpan 10°C 12 jam (Rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours)	414,12 ab	22,20
Pustul karat pecah direndam dalam air disimpan 10°C 12 jam (Mature rust pustuls dipped in water and stored at 10°C during 12 hours)	343,67 b	25,00
Pustul ditempel di atas daun (Pustuls adhered on the leaf)	495,85 a	55,53
Pustul pecah ditempel di atas daun (Mature pustuls adhered on the leaf)	285,32 b	-
Pustul ditempel di bawah daun (Pustuls adhered beneath the leaf)	227,47 b	-
Pustul pecah ditempel di bawah daun (Mature rust pustuls adhered beneath the leaf)	460,92 a	11,13
Tanaman plus pustul disimpan di samping tanaman uji disungkup (The plant + pustuls stored beside tested plants covered by transparent plastic)	577,54 a	44,47
Tanaman pustul pecah disimpan di samping tanaman uji disungkup (Mature pustuls plants stored beside tested plants covered by transparent plastic)	542,50 a	44,47
Kontrol (Control)	274,23 b	-
KK(CV), %	17,27	

yang telah maupun belum pecah, menunjukkan efektivitas yang sama untuk menginfeksi dan menimbulkan gejala pada tanaman.

#### **Luas Areal di Bawah Kurva Perkembangan Penyakit Perlakuan Metode Inokulasi dan Persentase Peningkatannya**

Dilihat dari hasil pengamatan IS, *P. horiana* pada 64 HSI, tampak bahwa perlakuan daun berpustul belum pecah yang ditempelkan di atas daun tanaman uji, menunjukkan IS yang paling tinggi yaitu 23,33% (Tabel 3). Namun apabila dilihat dari daerah di bawah kurva perkembangan penyakit (AUDPC), maka AUDPC tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan tanaman yang terinfeksi *P. horiana* berpustul belum pecah, kemudian diletakkan di samping tanaman uji dengan 577,54 dan PP = 44,47% (Tabel 4).

Angka AUDPC tertinggi kedua dan ketiga masing-masing ditunjukkan oleh perlakuan tanaman yang terinfeksi *P. horiana* berpustul pecah kemudian diletakkan di samping tanaman uji, dan perlakuan daun berpustul belum pecah

yang ditempelkan di atas daun tanaman uji dengan AUDPC masing-masing sebesar 542,50 dan 495,85 (PP masing-masing 44,47 dan 55,53%). Ketiga perlakuan tersebut, secara statistik tidak berbeda nyata. Dengan demikian, perlakuan metode inokulasi yang paling efektif menimbulkan gejala karat putih pada krisan ialah metode inokulasi secara alami, yaitu menggunakan tanaman yang terinfeksi *P. horiana* berpustul belum maupun telah pecah kemudian diletakkan di samping tanaman uji.

Oleh karena itu metode inokulasi tersebut digunakan pada pengujian skrining bakteri antagonis terhadap *P. horiana*, selain itu metode inokulasi *P. horiana* tersebut telah digunakan dalam pengujian skrining resistensi karat putih pada krisan oleh Hanudin *et al.* (2004), Budiarto *et al.* (2008), serta Rahardjo dan Suhardi (2008).

#### **Skrining Bakteri Antagonis terhadap *P. horiana***

##### **Intensitas Serangan *P. horiana* pada Beberapa Perlakuan Bakteri Antagonis**

Hasil uji antagonistik menunjukkan bahwa isolat *Corynebacterium*-2 paling efektif



**Tabel 5. Uji antagonistik mikroba terhadap *P. horiana* pada krisan secara in vivo (The antagonistic test of the microbes against *P. horiana* on chrysanthemum on in vivo condition)**

Perlakuan (Treatments)	Rerata intensitas serangan <i>P. horiana</i> pada pengamatan ke... HST (Average of disease intensity of <i>P. horiana</i> at ... DAT), %				
	58	65	72	79	86
Ba Cs1a	17,50 a*	20,00 a	30,00 a	30,00 a	30,00 a
Ba-3	15,00 a	16,67 a	17,50 b	18,33 ab	18,33 ab
BaAkCs3	15,00 a	15,00 a	15,00 b	15,00 b	15,00 b
Coryne-1	17,50 a	19,17 a	19,17 ab	19,17 ab	19,17 ab
Coryne-2	10,83 a	13,33 a	13,33 b	13,33 b	13,33 b
Coryne- 3	18,33 a	20,83 a	20,83 a	21,67 a	21,67 a
<i>Pf</i> -1 Sm	17,50 a	19,17 a	19,17 ab	19,17 ab	19,10 ab
<i>Pf</i> -2 Sm	20,00 a	20,83 a	20,83 a	20,83 a	20,83 a
<i>Pf</i> - 3 Sm	16,67 a	17,50 a	17,50 b	17,50 b	17,50 b
Azoksistrobin	14,17 a	14,17 a	14,17 b	14,17 b	14,17 b
Kontrol	19,17 a	20,83 a	20,83 a	20,83 a	21,67 a
KK(CV),%	13,27	15,29	11,27	18,17	13,59

HST(DAT) : Hari setelah tanam (Days after transplanting)

**Tabel 6. AUDPC dan persentase penekanan dibanding kontrol dan azoksistrobin pada beberapa perlakuan bakteri antagonis terhadap *P. horiana* (AUDPC and increasing percentages of antagonistic bacteria compared to control and azoxistrobin against *P. horiana*)**

Perlakuan (Treatments)	AUDPC %	Persentase penekanan dibanding ... (Percentage of suppressing compared to ...)	
		Kontrol (Chek)	Azoksistrobin (Azoxistrobin )0.1%
Ba Cs1a	726,25 a*	-	-
Ba-3	484,17 b	15,41	-
BaAkCs3	420,00 b	30,78	-
Coryne-1	530,92 b	11,54	-
Coryne-2	364,49 c	38,49	5,93
Coryne- 3	485,42 b	-	-
<i>Pf</i> -1 Sm	530,92 b	11,54	-
<i>Pf</i> - 2 Sm	580,34 b	3,88	-
<i>Pf</i> - 3 Sm	443,35 b	19,24	-
Azoksistrobin	396,76 c	34,61	-
Kontrol	480,37 b	-	-
KK (CV), %	12,59		

mengendalikan *P. horiana*. Hal tersebut diindikasikan oleh intensitas serangan *P. horiana* yang paling rendah (13,33%). Sebanyak tiga isolat bakteri antagonis yang diperoleh dari penelitian ini dapat memperbaiki bahan aktif biopestisida Prima BAPF. Ketiga isolat tersebut ialah dari kelompok *Bacillus* yaitu *B. subtilis* nomor isolat BaAk Cs3, kelompok Coryne yaitu *Corynebacterium*-2, dan isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* yaitu *Pf*-3 Sm. Ketiganya mampu mengendalikan *P. horiana* di rumah kaca.

Intensitas serangan *P. horiana* pada kelompok bakteri antagonis tersebut masing-masing 15,00, 13,33, dan 17,50% (Tabel 5).

*Bacillus subtilis* BaAKCs3 dan *P. fluorescens* *Pf*-3 Sm efektif untuk mengendalikan penyakit tanaman dengan cara mensintesis antibiotik dan mengolonisasi jaringan tanaman, sehingga terlindung dari infeksi patogen. Leisinger dan Margraff (1979), Hartman et al. (1993), serta Darsam dan Pramono (2001) melaporkan bahwa *Pseudomonas* dan *Bacillus* merupakan grup

bakteri yang mengandung antibiotik dan digunakan sebagai agens pengendali hayati pada beberapa patogen tanaman.

Berbagai jenis antibiotik diproduksi oleh *P. fluorescens*, seperti *pyoluteorin*, *oomycin*, *phenazine-1-carboxylic acid* atau *2,4-diphloroglucinol*. Produksi antibiotik tersebut telah dibuktikan sebagai faktor utama penghambatan perkembangan populasi dan penyakit yang ditimbulkan oleh *Gaeumannomyces tritici* (Thomashow dan Weller 1988), *Thielaviopsis basicola* (Keel *et al.* 1992), *Ralstonia solanacearum* (Mulya *et al.* 1996, Hanudin dan Marwoto 2003), dan *Puccinia arachidis* pada kedelai (Djarmiko *et al.* 2001).

Di samping menekan perkembangan populasi dan aktivitas patogen tanaman, *Pf* dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit. Mulya (1997) menemukan bahwa *Pf* strain G32R dapat menginduksi aktivitas enzim *phenil alanine amoliase*, yaitu enzim yang terlibat dalam ekspresi ketahanan tanaman tembakau. Defago *et al.* (1990) mengemukakan bahwa gen *Pf* yang terlibat dalam produksi asam salisilat memegang peranan penting dalam menginduksi tembakau terhadap *T. basicola*.

Selanjutnya Katz dan Demain (1977), Krezel dan Leszezynska (1978), Peypoux *et al.* (1978), Baker *et al.* (1983), serta Pusey *et al.* (1986) melaporkan bahwa *B. subtilis* mengeluarkan suatu antibiotik yang diduga dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan *R. solani*. Salah satu jenis antibiotik yang disekresikan oleh *B. subtilis* ialah *Xanthobacidin* (Huang dan Chang 1975).

Meidiantie *et al.* 2006 dalam Rismansyah (2010) melaporkan bahwa *Corynebacterium* sp. dapat menekan 52% gejala penyakit *bacterial red stripe* (BRS yang disebabkan oleh *Pseudomonas* sp.) dan 28% penyakit hawar daun *bacterial leaf blight* (BLB yang disebabkan oleh *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) pada padi.

#### **AUDPC Perlakuan Bakteri Antagonis dan Persentase Penekanannya**

Pada percobaan ini AUDPC terendah ditunjukkan oleh perlakuan *Corynebacterium-2* dengan 364,49% dan PPn dibanding kontrol = 38,49%, serta PPn dibanding azoksistrobin 5,93% (Tabel 6). Hal tersebut berarti bahwa *Corynebacterium-2* paling efektif dapat

menekan *P. horiana*, dengan persentase penekanan dibanding kontrol sebesar 38,49%.

Berdasarkan hasil analisis statistik terhadap AUDPC intensitas serangan *P. horiana* antara perlakuan *Corynebacterium-2* dan fungisida berbahan aktif azoksistrobin, diketahui bahwa kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata. Hal ini berarti efektivitas *Corynebacterium-2* dalam mengendalikan *P. horiana* sebanding dengan fungisida sintetik berbahan aktif azoksistrobin. Dengan kata lain penggunaan fungisida sintetik (azoksistrobin) dapat digantikan oleh *Corynebacterium-2*.

#### **KESIMPULAN**

1. Metode inokulasi *P. horiana* yang paling efektif menimbulkan gejala karat putih pada krisan yaitu perlakuan tanaman yang terinfeksi *P. horiana* berpustul belum pecah kemudian diletakkan di samping tanaman uji.
2. Isolat bakteri antagonis *Corynebacterium-2* efektif mengendalikan *P. horiana*. Efektivitas bakteri antagonis tersebut dalam menekan *P. horiana* sebanding dengan fungisida sintetik berbahan aktif azoksistrobin. Hal ini berarti penggunaan fungisida sintetik (azoksistrobin) dapat digantikan oleh *Corynebacterium-2*.

#### **UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Dirjen Dikti melalui Badan Litbang Pertanian, Puslitbang Hortikultura, dan Balai Penelitian Tanaman Hias yang telah membiayai, memberikan saran, kritik dalam perencanaan dan pelaksanaan penelitian. Kepada Bapak Prof. Dr. Ir. H. Suhardi M.S., yang telah mengoreksi makalah ini. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada Sdr. Endang Sutarya, Dede Surachman, Muhidin, Dadang Kusnandar, Ade Sulaeman, Iskandar Sanusie, dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian dan pelaporan ini.

#### **PUSTAKA**

1. Agrios, G. N. 1988. Plant Diseases Epidemiology. In. *Plant Pathology*. Thrid Eds. Academic Press., Inc. p.156-179.

2. Anonim. 2007. Chrysanthemum White Rust. *Plant Health*. USDA-APHIS [http://www.aphis.usda.gov/plant\\_health/plant\\_pest\\_info/cwr/index.shtml](http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/cwr/index.shtml). [17 Mei 2010].
3. Baker, J. J. 1967. Chrysanthemum White Rust in England and Wales 1963-66. *Plant Pathol.* 16:162-166.
4. Baker, C.J., J.R. Staveland, C.A. Thomas, M. Sasser, and J.S. MacFall. 1983. Inhibitory Effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on Development of Rust Pustules on Bean Leaves. *Phytopathol.* 73:1148-1152.
5. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Barat. 2008. Teknologi Pengendalian OPT Ramah Lingkungan dengan Bakteri *Corynebacterium*. Leaflet. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Barat.
6. BBPOT. 2007. Perbanyak Corynebacterium dalam Teknologi Pengendalian OPT Ramah Lingkungan. Leaflet, Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, Balai Besar Peramalan Organisme Pengganggu Tumbuhan. Penas ke XII, Banyuasin, Sumatera Selatan, 2-12 Juli 2007.
7. Bonde, M. R., G. L. Peterson, S. A. Rizvi, and J. L. Smilanick. 1995. Myclobutanil as A Curative Agent for Chrysanthemum White Rust. *Plant Dis.* 79:500-505.
8. Budiarto, K., I. B. Rahardjo, dan Suhardi. 2008. Seleksi Ketahanan Klon-klon Harapan Krisan terhadap Penyakit Karat. *J. Hort.* 18(3):249-254.
9. Contreras, C. V. and L. M. Vazquez-Garcia. 2008. Inoculation In Vitro of The Rust (*Puccinia horiana* Henning) in *Chrysanthemum* (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Agronomia Meso Americana* 19(1):81-85.
10. Darsam dan E. Pramono. 2001. Pemberian Pasta Bahan Organik Beragens Hayati *Bacillus subtilis* pada Medium Tanam Tanah PMK dalam Pengendalian *Sclerotium* sp. Dalam Purwantara, A. (Ed.) *Prosiding Kongres XVI dan Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia* di Bogor. Hlm. 92 -94.
11. Defago, G., C.H. Berling, U. Burger, D. Haas, G. Kahr, C. Keel, C. Votsard, P. Wirthner, and B. Wüthrich. 1990. Suppression of Black Root Rot of Tobacco and Other Root Diseases by Strains of *Pseudomonas fluorescens*. Potensial Application and Mechanisms. In: Homby, D. (Ed.). *Biological Control of Soil Borne Pathogens*. CAB. International, England. p. 93-108.
12. Djatmiko, H. A., Soedarmono, dan E. Mariani. 2001. Pengaruh Elisitor *Puccinia arichidis* dan *Pseudomonas fluorescens* terhadap Penyakit Karat Daun pada Tiga Varietas Kedelai. Dalam Purwantara, A. (Ed.) *Prosiding Kongres XVI dan Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia di Bogor*. Hlm. 95 -97.
13. Djatnika, I., K. Dwiatmini, dan L. Sanjaya. 1994. Ketahanan Beberapa Kultivar Krisan terhadap Penyakit Karat. *Bul. Penel. Tan. Hias* II (2):19-25.
14. Ellis, D. 2007. New Pest Concern in New England. Chrysanthemum White Rust. Integrated Pest Management, Univ. Connecticut. <http://www.hort.uconn.edu/lpm/general/biocontrl/chryswheiterust.htm>. [17 Mei 2010].
15. Exley, P. J., R. J. Giles, I. G. Pascoe, and G. L. Guy. 1993. The Impact and Control of White Rust of Chrysanthemums in Australia. Abstr. *Int. Congress Plant Pathol.* 6<sup>th</sup>.
16. Firman, I. D. and P.H. Martin. 1968. White Rust of Chrysanthemum. *Ann. Appl. Biol.* 62:429-442.
17. Griesbach, J. A., G. M. Milbrath, and T. W. Thomson. 1991. First Occurrence of Chrysanthemum White Rust Caused by *Puccinia horiana* on Florists Chrysanthemum in Oregon. *Plant Dis.* 75:431.
18. Hanudin dan B. Marwoto. 2003. Pengendalian Penyakit Layu Bakteri dan Akar Gada pada Tomat dan Caisin Menggunakan *Pseudomonas fluorescens*. *J. Hort.* 13(1):58-66.
19. \_\_\_\_\_, K. Kardin, dan Suhardi. 2004. Evaluasi Ketahanan Klon-klon Krisan terhadap Penyakit Karat Putih. *J. Hort.* 14 (Ed.Khusus):430-435.
20. \_\_\_\_\_, W. Nuryani, and K. Budiarto. 2008. Effectiveness of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* in Liquid Formulation to Control Important Diseases on Chrysanthemum and Chinese Cabbage. *Agrivita*. 30 (3):255-262.
21. Hartman, G. L., W. F. Hong, Hanudin, and A.C. Hayward. 1993. Potential of Biological and Chemical Control of Bacterial Wilt. *ACIAR. Proceeding.* 45:322-326.
22. Huang, T.C. and M.C. Chang. 1975. Studies on Xanthobacilin, New Antibiotic from *Bacillus subtilis* Active Against *Xanthomonas*. *Bot. Bull. Acad. Sinica*. 16:137-148.
23. Jeger, M. J. and S.L.H. Viljanen-Rollinson. 2001. The Use of The Area Under Disease-Progress Curve (AUDPC) to Assess Quantitative Disease Resistance In Cropcultivars. *Theory Appl. Genet.* 102:32- 40.
24. Katz, E. and A. L. Demain. 1977. The Peptide Antibiotics of *Bacillus*: Chemistry, Biogenesis, and Possible Functions. *Bacteriol. Rev.* 41:449-474.
25. Keel, C., U. Schneider, M. Maurhoper, C. Voisard, J. Laville, U. Burger, P. Wirthner, D. Haas, and G. Defago. 1992. Suppression of Root Disease by *Pseudomonas fluorescens* CHO: Importance of Bacterial Secondary Metabolite 2,4-Diacetylphloroglucinol. *Plant-Microbe Interact.* 5:4-13.
26. Krezel, Z. and D. Leszezynska. 1978. Antibiotic Activity of *Bacillus subtilis* 93 to some Phytopathogenic Microorganisms. *Med Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent.* 43:859-865.
27. Leisinger, T. and R. Margraff. 1979. Secondary Metabolites of the *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiol. Rev.* 43:422-442.
28. MacDonald, L. 2001. Chrysanthemum White Rust. Pest Management. Gov. British Columbia. <http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/cwrust.htm>. [17 Mei 2010].
29. Mulya, K., Y. Takikawa, and S. Tsuyumu. 1996. The Presence of Homologous to hrp Cluster in *Pseudomonas fluorescens* Pfg32R. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* 62(4):355-359.
30. \_\_\_\_\_, 1997. Penekanan Perkembangan Penyakit Layu Bakteri Tomat oleh *Pseudomonas fluorescens*. *J. Hort.* 7(2):685-691.
31. Ohishi, K., Y. Okumura, and K. Morioka. 2000. Incubation of *Puccinia horiana* P. H Using Chrysanthemum Plants Cultured In Vitro. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 69(6):767-769.
32. Peypoux, F., M. Guinand, M. Georges, L. Delcombe, B. C. Das, and E. Lederer. 1978. Structure of Iturine A, A Peptidolipid Antibiotic from *Bacillus subtilis*. *Biochem.* 17:3992-3996.

33. Pusey, P. L., C.L. Wilson, M.W. Hotchkiss, and J.D. Franklin. 1986. Compatibility of *Bacillus subtilis* for Postharvest Control of Peach Brown Rot with Commercial Fruit Waxes, Dicloran, and Cold Storage Conditions. *Plant Dis.* 70:587-590.
34. Raharjo, I. B. dan Suhardi. 2008. Insidensi dan Intensitas Serangan Penyakit Karat Putih pada Beberapa Klon Krisan. *J. Hort.* 18(3):312-318.
35. Rismansyah, E.A. 2010. Biofungisida untuk Mengendalikan Penyakit Tanaman. <http://erlanarismansyah.wordpress.com/2010/04/17/biofungisida>. [20 April 2010]
36. Salerno, C.M. and M.A. Sagardoy. 2003. Short Communication: Antagonistic Activity by *Bacillus subtilis* Against *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* Under Controlled Condition. *Spanish J. Agric. Res.* 1(2):55-58.
36. Sandjaya, L. 1994. Pengaruh Penambahan Penyinaran dengan Lampu TL dan Pijar terhadap Pertumbuhan dan Pembungaan Krisan Pot. *Bul. Pen. Tan. Hias* 2(2):61-70.
37. Suhardi. 2009. Sumber Inokulum, Respons Varietas, dan Efektivitas Fungisida terhadap Penyakit Karat Putih pada Tanaman Krisan. *J. Hort.* 19(2): 207-209.
38. Szakuta, G. and J. Butrymowicz. 2004. Diagnostic Protocols Regulated Pests. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO)-Agricultural Research Center (ARC), Dept. of Crop Protection, Merelbeke, Belgium. *EPPO. Bull.* 34:155-157.
39. Thomashow, L.S and D.M. Weller. 1988. Role of Penazine Antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in Biological Control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *J. Bacteriol.* 170:3499-3508.
40. Zandvoort, R., C. A. M. Groenewegen, and J. C. Zadoks. 1968. Methods for the Inoculation of *Chrysanthemum morifolium* with *Puccinia horiana*. *Neth. J. Pl. Path.* 74:174 -176.